CHOL2

Cholesterol Gen.2

• Indicates **cobas c** systems on which reagents can be used

Order information			Roche/Hitachi **cobas c** systems	
Cholesterol Gen.2			**cobas c** 311	**cobas c** 501/502
400 tests	Cat. No. **03039773** 190	System-ID 07 6726 3	•	•
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Cat. No. **10759350** 190	Code 401		
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, for USA)	Cat. No. **10759350** 360	Code 401		
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Cat. No. **12149435** 122	Code 300		
Precinorm U plus (10 x 3 mL, for USA)	Cat. No. **12149435** 160	Code 300		
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Cat. No. **12149443** 122	Code 301		
Precipath U plus (10 x 3 mL, for USA)	Cat. No. **12149443** 160	Code 301		
Precinorm U (20 x 5 mL)	Cat. No. **10171743** 122	Code 300		
Precipath U (20 x 5 mL)	Cat. No. **10171778** 122	Code 301		
Precinorm L (4 x 3 mL)	Cat. No. **10781827** 122	Code 304		
Precipath L (4 x 3 mL)	Cat. No. **11285874** 122	Code 305		
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Cat. No. **04489357** 190	System-ID 07 6869 3		

English

System information

For **cobas c** 311/501 analyzers:
CHO2I: ACN 798: ID/MS Standardization
CHO2A: ACN 433: Abell/Kendall Standardization
For **cobas c** 502 analyzer:
CHO2I: ACN 8798: ID/MS Standardization
CHO2A: ACN 8433: Abell/Kendall Standardization

Intended use

In vitro test for the quantitative determination of cholesterol in human serum and plasma on Roche/Hitachi **cobas c** systems.

Summary

Cholesterol is a steroid with a secondary hydroxyl group in the C3 position. It is synthesized in many types of tissue, but particularly in the liver and intestinal wall. Approximately three quarters of cholesterol is newly synthesized and a quarter originates from dietary intake. Cholesterol assays are used for screening for atherosclerotic risk and in the diagnosis and treatment of disorders involving elevated cholesterol levels as well as lipid and lipoprotein metabolic disorders.

Cholesterol analysis was first reported by Liebermann in 1885 followed by Burchard in 1889. In the Liebermann-Burchard reaction, cholesterol forms a blue-green dye from polymeric unsaturated carbohydrates in an acetic acid/acetic anhydride/concentrated sulfuric acid medium. The Abell and Kendall method is specific for cholesterol, but is technically complex and requires the use of corrosive reagents. In 1974, Roeschlau and Allain described the first fully enzymatic method. This method is based on the determination of Δ4-cholestenone after enzymatic cleavage of the cholesterol ester by cholesterol esterase, conversion of cholesterol by cholesterol oxidase, and subsequent measurement by the Trinder reaction of the hydrogen peroxide formed. Optimization of ester cleavage (> 99.5 %) allows standardization using primary and secondary standards and a direct comparison with the CDC and NIST reference methods.[1,2,3,4,5,6,7,8,9] Nonfasting sample results may be slightly lower than fasting results.[10,11,12]

The Roche cholesterol assay meets the 1992 National Institutes of Health (NIH) goal of less than or equal to 3 % for both precision and bias.[12]

The assay is optionally standardized against Abell/Kendall and isotope dilution/mass spectrometry. The performance claims and data presented here are independent of the standardization.

Test principle

Enzymatic, colorimetric method.
Cholesterol esters are cleaved by the action of cholesterol esterase to yield free cholesterol and fatty acids. Cholesterol oxidase then catalyzes the oxidation of cholesterol to cholest-4-en-3-one and hydrogen peroxide. In the presence of peroxidase, the hydrogen peroxide formed effects the oxidative coupling of phenol and 4-aminophenazone to form a red quinone-imine dye.

$$\text{Cholesterol esters} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{cholesterol} + \text{RCOOH}$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{cholest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{phenol} \xrightarrow{POD} \text{quinone-imine dye} + 4\,H_2O$$

The color intensity of the dye formed is directly proportional to the cholesterol concentration. It is determined by measuring the increase in absorbance.

Reagents – working solutions

R1 PIPES buffer: 225 mmol/L, pH 6.8; Mg^{2+}: 10 mmol/L; sodium cholate: 0.6 mmol/L; 4-aminophenazone: ≥ 0.45 mmol/L; phenol: ≥ 12.6 mmol/L; fatty alcohol polyglycol ether: 3 %; cholesterol esterase (Pseudomonas spec.): ≥ 25 µkat/L (≥ 1.5 U/mL); cholesterol oxidase (E. coli): ≥ 7.5 µkat/L (≥ 0.45 U/mL); peroxidase (horseradish): ≥ 12.5 µkat/L (≥ 0.75 U/mL); stabilizers; preservative

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
Safety data sheet available for professional user on request.
Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Reagent handling

Ready for use.

Storage and stability

CHOL2

Shelf life at 2-8 °C:	See expiration date on **cobas c** pack label.
On-board in use and refrigerated on the analyzer:	4 weeks

Diluent NaCl 9 %

Shelf life at 2-8 °C:	See expiration date on **cobas c** pack label.
On-board in use and refrigerated on the analyzer:	12 weeks

Specimen collection and preparation

For specimen collection and preparation, only use suitable tubes or collection containers.
Only the specimens listed below were tested and found acceptable.
Serum.
Plasma: Li-heparin and K_2-EDTA plasma
Do not use citrate, oxalate or fluoride.[13]
Fasting and nonfasting samples can be used.[11]

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

Stability:[14,15] 7 days at 15-25 °C
7 days at 2-8 °C
3 months at (-15)-(-25) °C

Materials provided
See "Reagents – working solutions" section for reagents.

Materials required (but not provided)
See "Order information" section.
General laboratory equipment

Assay
For optimum performance of the assay follow the directions given in this document for the analyzer concerned. Refer to the appropriate operator's manual for analyzer-specific assay instructions.
The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

Application for serum and plasma

cobas c 311 **test definition**

Assay type	1 Point		
Reaction time / Assay points	10 / 57		
Wavelength (sub/main)	700/505 nm		
Reaction direction	Increase		
Units	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagent pipetting		Diluent (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Sample volumes	*Sample*	*Sample dilution*	
		Sample	*Diluent (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Decreased	2 µL	15 µL	135 µL
Increased	4 µL	–	–

cobas c 501/502 **test definition**

Assay type	1 Point		
Reaction time / Assay points	10 / 70		
Wavelength (sub/main)	700/505 nm		
Reaction direction	Increase		
Units	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagent pipetting		Diluent (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Sample volumes	*Sample*	*Sample dilution*	
		Sample	*Diluent (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Decreased	2 µL	15 µL	135 µL
Increased	4 µL	–	–

Calibration

Calibrators	S1: H_2O S2: C.f.a.s.
Calibration mode	Linear
Calibration frequency	2-point calibration - after reagent lot change - and as required following quality control procedures

Traceability: This method has been standardized according to Abell/Kendall[12] and also by isotope dilution/mass spectrometry.[16]

Quality Control
For quality control, use control materials as listed in the "Order information" section.
Other suitable control material can be used in addition.
The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.
Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.

Calculation
Roche/Hitachi **cobas c** systems automatically calculate the analyte concentration of each sample.

Conversion factors:	mmol/L x 38.66 = mg/dL
	mmol/L x 0.3866 = g/L
	mg/dL x 0.0259 = mmol/L

Limitations – interference[17]
Criterion: Recovery within ± 10 % of initial values at a cholesterol concentration of 5.2 mmol/L (200 mg/dL).
Icterus: No significant interference up to an I index of 16 for conjugated bilirubin and 14 for unconjugated bilirubin (approximate conjugated bilirubin concentration 274 µmol/L (16 mg/dL) and approximate unconjugated bilirubin concentration 239 µmol/L (14 mg/dL)).
Hemolysis: No significant interference up to an H index of 700 (approximate hemoglobin concentration: 435 µmol/L (700 mg/dL)).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 2000. There is poor correlation between the L index (corresponds to turbidity) and triglycerides concentration.
Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels.[18,19]
In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.
For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

ACTION REQUIRED
Special Wash Programming: The use of special wash steps is mandatory when certain test combinations are run together on Roche/Hitachi **cobas c** systems. The latest version of the Carry over evasion list can be found with the NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS or the NaOHD/SMS/SmpCln1 + 2/SCCS Method Sheets. For further instructions refer to the operator manual.
cobas c 502 analyzer: All special wash programming necessary for avoiding carry over is available via the **cobas** link, manual input is not required.
Where required, special wash/carry over evasion programming must be implemented prior to reporting results with this test.

Limits and ranges
Measuring range
0.1-20.7 mmol/L (3.86-800 mg/dL)
Determine samples having higher concentrations via the rerun function. Dilution of samples via the rerun function is a 1:10 dilution. Results from samples diluted by the rerun function are automatically multiplied by a factor of 10.

Lower limits of measurement
Lower detection limit of the test
0.1 mmol/L (3.86 mg/dL)
The lower detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated as the value lying three standard deviations above that of the lowest standard (standard 1 + 3 SD, repeatability, n = 21).

Expected values
Clinical interpretation according to the recommendations of the European Atherosclerosis Society:[20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Lipid metabolic disorder*
Cholesterol Triglycerides	< 5.2 < 2.3	(< 200) (< 200)	No
Cholesterol	5.2-7.8	(200-300)	Yes, if HDL-cholesterol < 0.9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Cholesterol Triglycerides	> 7.8 > 2.3	(> 300) (> 200)	Yes

Recommendations of the NCEP Adult Treatment Panel for the following risk-cutoff thresholds for the US American population:[21]

Desirable cholesterol level	< 5.2 mmol/L	(< 200 mg/dL)
Borderline high cholesterol	5.2-6.2 mmol/L	(200-240 mg/dL)
High cholesterol	≥ 6.2 mmol/L	(≥ 240 mg/dL)

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data

Representative performance data on the analyzers are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Precision

Precision was determined using human samples and controls in an internal protocol. Repeatability* (n = 21), intermediate precision** (3 aliquots per run, 1 run per day, 21 days). The following results were obtained:

*Repeatability **	*Mean mmol/L (mg/dL)*	*SD mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2.29 (88.5)	0.02 (0.8)	1.1
Precipath U	4.74 (183)	0.04 (2)	0.9
Human serum 1	2.85 (110)	0.03 (1)	1.1
Human serum 2	7.39 (286)	0.05 (2)	0.7

*Intermediate precision ***	*Mean mmol/L (mg/dL)*	*SD mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2.31 (89.3)	0.04 (1.6)	1.6
Precipath U	4.85 (188)	0.08 (3)	1.6
Human serum 3	1.97 (76.2)	0.03 (1.2)	1.6
Human serum 4	7.13 (276)	0.10 (4)	1.4

* repeatability = within-run precision

** intermediate precision = total precision / between run precision / between day precision

Method comparison

Cholesterol values for human serum and plasma samples obtained on a Roche/Hitachi **cobas c** 501 analyzer (y) were compared with those determined using the same reagent on a Roche/Hitachi 917 analyzer (x).
Sample size (n) = 266

Passing/Bablok[22]	Linear regression
y = 1.002x + 0.045 mmol/L	y = 1.012x - 0.015 mmol/L
τ = 0.953	r = 0.997

The sample concentrations were between 1.53 and 18.5 mmol/L (59.1 and 715 mg/dL).

References

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. In: Rifai N, Warnick GR, and Dominiczak MH, editors. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed. Washington: AACC press; p.176.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:130-131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography - a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145-146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No 01-3670; May 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

FOR US CUSTOMERS ONLY: LIMITED WARRANTY

Roche Diagnostics warrants that this product will meet the specifications stated in the labeling when used in accordance with such labeling and will be free from defects in material and workmanship until the expiration date printed on the label. THIS LIMITED WARRANTY IS IN LIEU OF ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL ROCHE DIAGNOSTICS BE LIABLE FOR INCIDENTAL, INDIRECT, SPECIAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Distribution in USA by:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-2336

Roche

03039773190V7

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

• Die Reagenzien können auf diesen **cobas c** Systemen verwendet werden

Bestellinformation

			Roche/Hitachi **cobas c** Systeme	
Cholesterol Gen.2			**cobas c** 311	**cobas c** 501/502
400 Tests	Best.-Nr. **03039773** 190	System-ID 07 6726 3	•	•
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Best.-Nr. **10759350** 190	Code 401		
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, für USA)	Best.-Nr. **10759350** 360	Code 401		
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Best.-Nr. **12149435** 122	Code 300		
Precinorm U plus (10 x 3 mL, für USA)	Best.-Nr. **12149435** 160	Code 300		
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Best.-Nr. **12149443** 122	Code 301		
Precipath U plus (10 x 3 mL, für USA)	Best.-Nr. **12149443** 160	Code 301		
Precinorm U (20 x 5 mL)	Best.-Nr. **10171743** 122	Code 300		
Precipath U (20 x 5 mL)	Best.-Nr. **10171778** 122	Code 301		
Precinorm L (4 x 3 mL)	Best.-Nr. **10781827** 122	Code 304		
Precipath L (4 x 3 mL)	Best.-Nr. **11285874** 122	Code 305		
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Best.-Nr. **04489357** 190	System-ID 07 6869 3		

Deutsch

Systeminformation

Für **cobas c** 311/501 Geräte:
CHO2I: ACN 798: ID/MS Standardisierung
CHO2A: ACN 433: Standardisierung nach Abell/Kendall
Für **cobas c** 502 Geräte:
CHO2I: ACN 8798: ID/MS Standardisierung
CHO2A: ACN 8433: Standardisierung nach Abell/Kendall

Anwendungszweck

In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von Cholesterin in Humanserum und -plasma mit Roche/Hitachi **cobas c** Systemen.

Zusammenfassung

Cholesterin ist ein Steroid mit einer sekundären Hydroxylgruppe in C3-Stellung. Es wird in vielen Geweben, besonders aber in der Leber und der Darmwand synthetisiert. Etwa drei Viertel des Cholesterins entstehen durch Neusynthese und ein Viertel durch die Nahrungsaufnahme. Die Cholesterinbestimmungen dienen als Screening auf ein atherogenes Risiko und zur Diagnose und Behandlung von Krankheiten mit erhöhtem Cholesterin sowie für Lipid- und Lipoproteinstoffwechselstörungen.

Die erste Cholesterinbestimmung beschrieb Liebermann 1885 und nachfolgend Burchard 1889. Cholesterin bildet nach dem Liebermann-Burchard-Prinzip mit Essigsäure, Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure blaugrün gefärbte Verbindungen aus polymeren ungesättigten Kohlenwasserstoffen. Die Methode nach Abell und Kendall ist spezifisch für Cholesterin, aber technisch umständlich und verwendet ebenfalls ätzende Reagenzien. 1974 beschrieben Roeschlau und Allain die erste vollenzymatische Methode. Diese Methode beruht auf der Bestimmung von Δ4-Cholestenon nach enzymatischer Spaltung der Cholesterinester mit Cholesterinesterase und Umwandlung des Cholesterins durch Cholesterinoxidase sowie der anschließenden Messung des gebildeten Wasserstoffperoxids über eine Trinderreaktion. Die Optimierung der Esterspaltung (> 99,5 %) ermöglicht die Standardisierung durch primäre und sekundäre Standards und einen direkten Vergleich zu den CDC- und NIST-Referenzverfahren.[1,2,3,4,5,6,7,8,9] Die postprandialen Werte können etwas niedriger als die Ergebnisse in Nüchternseren liegen.[10,11,12]

Der Cholesterintest von Roche erreicht die Zielvorgabe des National Institutes of Health (NIH) von 1992 von höchstens 3 % sowohl für Präzision als auch Abweichung.[12]

Der Test wird wahlweise gegen Abell/Kendall und Isotopenverdünnung/Massenspektrometrie standardisiert. Die hier dargestellten Leistungsanforderungen und -daten sind unabhängig von der Standardisierung.

Testprinzip

Enzymatischer Farbtest

Die Cholesterinester werden unter Einwirkung der Cholesterinesterase in freies Cholesterin und Fettsäuren gespalten. Die Cholesterinoxidase katalysiert die Oxidation von Cholesterin zu Cholest-4-en-3-on und Wasserstoffperoxid. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet mit 4-Aminophenazon und Phenol unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen roten Chinoniminfarbstoff.

$$\text{Cholesterinester} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{Cholesterin} + \text{RCOOH}$$

$$\text{Cholesterin} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{Cholest-4-en-3-on} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{Phenol} \xrightarrow{POD} \text{Chinoniminfarbstoff} + 4\,H_2O$$

Die Farbintensität des gebildeten Farbstoffes ist direkt proportional zur Cholesterinkonzentration. Sie wird durch Messung der Extinktionszunahme bestimmt.

Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen

R1 PIPES-Puffer: 225 mmol/L, pH 6,8; Mg^{2+}: 10 mmol/L; Natriumcholat: 0,6 mmol/L; 4-Aminophenazon: ≥ 0,45 mmol/L; Phenol: ≥ 12,6 mmol/L; Fettalkoholpolyglykolether: 3 %; Cholesterinesterase (Pseudomonas spec.): ≥ 25 µkat/L (≥ 1,5 U/mL); Cholesterinoxidase (E. coli): ≥ 7,5 µkat/L (≥ 0,45 U/mL); Peroxidase (Meerrettich): ≥ 12,5 µkat/L (≥ 0,75 U/mL); Stabilisatoren; Konservierungsmittel

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro-Diagnostikum.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.
Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.
Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

Reagenz-Handhabung

Gebrauchsfertig

Lagerung und Haltbarkeit

CHOL2

Haltbarkeit bei 2-8 °C:	Siehe Verfallsdatum auf dem **cobas c** pack Etikett.
Im Gerät, in Gebrauch und gekühlt:	4 Wochen

Diluent NaCl 9 %

Haltbarkeit bei 2-8 °C:	Siehe Verfallsdatum auf dem **cobas c** pack Etikett.
Im Gerät, in Gebrauch und gekühlt:	12 Wochen

Probenentnahme und Vorbereitung

Zur Probenentnahme und -vorbereitung nur geeignete Röhrchen oder Sammelgefäße verwenden.
Nur die unten aufgeführten Proben wurden getestet und können verwendet werden.

Serum
Plasma: Li-Heparin- und K_2-EDTA-Plasma
Kein Citrat, Oxalat oder Fluorid verwenden.[13]
Nüchternproben und postprandiale Proben können eingesetzt werden.[11]

Die aufgeführten Probenarten wurden mit einer Auswahl an handelsüblichen Probenentnahmeröhrchen, die zu diesem Zeitpunkt erhältlich waren, getestet, d.h. nicht alle erhältlichen Röhrchen aller Hersteller wurden getestet. Probenentnahmesysteme von verschiedenen Herstellern

können unterschiedliche Materialien enthalten, die die Testergebnisse im Einzelfall beeinflussen können. Bei der Verwendung von Primärröhrchen (Probenentnahmesysteme) sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Haltbarkeit:[14,15]	7 Tage bei 15-25 °C
	7 Tage bei 2-8 °C
	3 Monate bei (-15)-(-25) °C

Gelieferte Materialien
Siehe "Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen".

Zusätzlich benötigte Materialien
Siehe Abschnitt "Bestellinformation".
Allgemein übliche Laborausrüstung

Testdurchführung
Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden. Für Arbeitsanleitungen, die nicht von Roche validiert wurden, wird keine Gewähr übernommen. Sie müssen vom Anwender definiert werden.

Applikation für Serum und Plasma

cobas c 311 **Testdefinition**

Messart	1 Punkt		
Reaktionszeit/Messpunkte	10 / 57		
Wellenlänge (Neben/Haupt)	700/505 nm		
Reaktionsrichtung	Steigend		
Einheiten	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagenzpipettierung		Diluens (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Probenvolumen	*Probe*	*Probenverdünnung*	
		Probe	*Diluens (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Reduziert	2 µL	15 µL	135 µL
Erhöht	4 µL	–	–

cobas c 501/502 **Testdefinition**

Messart	1 Punkt		
Reaktionszeit/Messpunkte	10 / 70		
Wellenlänge (Neben/Haupt)	700/505 nm		
Reaktionsrichtung	Steigend		
Einheiten	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagenzpipettierung		Diluens (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Probenvolumen	*Probe*	*Probenverdünnung*	
		Probe	*Diluens (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Reduziert	2 µL	15 µL	135 µL
Erhöht	4 µL	–	–

Kalibration

Kalibratoren	S1: H_2O S2: C.f.a.s.
Kalibrationsart	Linear
Kalibrationshäufigkeit	Zweipunktkalibration - nach Reagenzchargenwechsel - und wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Rückführbarkeit: Diese Methode wurde nach Abell/Kendall[12] sowie mit Isotopenverdünnung/Massenspektrometrie standardisiert.[16]

Qualitätskontrolle
Zur Qualitätskontrolle sind die unter "Bestellinformation" aufgeführten Materialien zu verwenden.
Anderes geeignetes Kontrollmaterial kann zusätzlich verwendet werden.
Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall festlegen, dass Werte außerhalb der Grenzen liegen.
Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

Berechnung
Die Roche/Hitachi **cobas c** Systeme berechnen automatisch die Analytkonzentration der Probe.

Umrechnungsfaktoren:	mmol/L x 38,66 = mg/dL
	mmol/L x 0,3866 = g/L
	mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen[17]
Als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10 % vom Ausgangswert bei einer Cholesterinkonzentration von 5,2 mmol/L (200 mg/dL).

Ikterus: Keine wesentliche Beeiflussung bis zu einem Index I von 16 (konjugiertes Bilirubin) und 14 (unkonjugiertes Biliruin) entsprechend ca. 274 µmol/L bzw. 16 mg/dL konjugiertem Bilirubin und ca. 239 µmol/L bzw. 14 mg/dL unkonjugiertem Bilirubin.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 700 (ca. 435 µmol/L bzw. 700 mg/dL Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 2000. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen dem L-Index (entspricht der Trübung) und der Triglyceridkonzentration.

Medikamente: In therapeutischen Konzentrationen wurde bei üblichen Medikamenten-Panels keine Störung gefunden.[18,19]

In sehr seltenen Fällen kann eine Gammopathie, insbesondere vom Typ IgM (Waldenström-Makroglobulinämie), zu unzuverlässigen Ergebnissen führen.

Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

WICHTIGER HINWEIS
Spezielle Waschprogrammierung: Spezielle Waschschritte sind zwingend erforderlich, wenn auf Roche/Hitachi **cobas c** Systemen bestimmte Testkombinationen zusammen durchgeführt werden. Die neueste Version der "Carry-over evasion list" ist auch in den NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS oder NaOHD/SMS/SmpCln1 + 2/SCCS Methodenblättern enthalten. Weitere Anweisungen siehe Bedienerhandbuch.
cobas c 502 Gerät: Die zur Vermeidung von Verschleppungen notwendigen, speziellen Waschprogrammierungen sind über den **cobas** link erhältlich. Eine manuelle Eingabe ist nicht erforderlich.
Gegebenenfalls muss ein spezielles Waschprogramm zur Vermeidung von Verschleppungen vor Ausgabe der Ergebnisse dieses Tests definiert werden.

Grenzen und Bereiche
Messbereich
0,1-20,7 mmol/L (3,86-800 mg/dL)

Proben mit höheren Konzentrationen über die Rerun-Funktion bestimmen. Bei der Rerun-Funktion werden diese Proben 1:10 verdünnt. Die Ergebnisse von Proben, die durch die Rerun-Funktion verdünnt wurden, werden automatisch mit dem Faktor 10 multipliziert.

Untere Messgrenzen
Untere Nachweisgrenze des Tests
0,1 mmol/L (3,86 mg/dL)
Die untere Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Analytkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als die Konzentration, die drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt (Standard 1 + 3 SD, Wiederholpräzision, n = 21).

CHOL2
Cholesterol Gen.2

cobas®

Referenzwerte
Klinische Interpretation nach den Empfehlungen der Europäischen Atherosklerose Gesellschaft:[20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Lipidstoffwechselstörung*
Cholesterin Triglyceride	< 5,2 < 2,3	(< 200) (< 200)	Nein
Cholesterin	5,2-7,8	(200-300)	Ja, wenn HDL-Cholesterin < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Cholesterin Triglyceride	> 7,8 > 2,3	(> 300) (> 200)	Ja

Empfehlungen des NCEP Adult Treatment Panel für folgende Risiko-Cutoff-Bereiche für die US-amerikanische Bevölkerung:[21]

Idealbereich von Cholesterin	< 5,2 mmol/L	(< 200 mg/dL)
Grenzwertig hohes Cholesterin	5,2-6,2 mmol/L	(200-240 mg/dL)
Hohes Cholesterin	≥ 6,2 mmol/L	(≥ 240 mg/dL)

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls selbst ermitteln.

Spezifische Leistungsdaten des Tests
Nachstehend werden repräsentative Leistungsdaten der Analysengeräte aufgezeigt. Die Ergebnisse des einzelnen Labors können davon abweichen.

Präzision
Die Präzision wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll bestimmt. Wiederholpräzision* (n = 21), Zwischenpräzision** (3 Aliquote pro Durchlauf, 1 Durchlauf pro Tag, 21 Tage). Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

*Wiederholpräzision**	*MW* *mmol/L (mg/dL)*	*SD* *mmol/L (mg/dL)*	*VK* *%*
Precinorm U	2,29 (88,5)	0,02 (0,8)	1,1
Precipath U	4,74 (183)	0,04 (2)	0,9
Humanserum 1	2,85 (110)	0,03 (1)	1,1
Humanserum 2	7,39 (286)	0,05 (2)	0,7

*Zwischenpräzision***	*MW* *mmol/L (mg/dL)*	*SD* *mmol/L (mg/dL)*	*VK* *%*
Precinorm U	2,31 (89,3)	0,04 (1,6)	1,6
Precipath U	4,85 (188)	0,08 (3)	1,6
Humanserum 3	1,97 (76,2)	0,03 (1,2)	1,6
Humanserum 4	7,13 (276)	0,10 (4)	1,4

* Wiederholpräzision = Präzision in der Serie

** Zwischenpräzision = Gesamt-Präzision/Lauf-Lauf-Präzision/Tag-Tag-Präzision

Methodenvergleich
Die auf einem Roche/Hitachi **cobas c** 501 Gerät (y) ermittelten Cholesterinwerte für Humanserum- und -plasmaproben wurden mit den Werten verglichen, die mit dem gleichen Reagenz auf einem Roche/Hitachi 917 Gerät (x) bestimmt wurden.

Probenanzahl (n) = 266

Passing/Bablok[22]	Lineare Regression
y = 1,002x + 0,045 mmol/L	y = 1,012x - 0,015 mmol/L
τ = 0,953	r = 0,997

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 1,53 und 18,5 mmol/L (59,1 und 715 mg/dL).

Literatur

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. In: Rifai N, Warnick GR, and Dominiczak MH, editors. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed. Washington: AACC press; p.176.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 1995:130-131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography - a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145-146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No 01-3670; May 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Signifikante Ergänzungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Roche

03039773190V7

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

• Réactifs utilisables sur les systèmes **cobas c** suivants :

Systèmes Roche/Hitachi **cobas c**	
cobas c 311	**cobas c** 501/502
•	•

Références de commande

Cholesterol Gen.2		
400 tests	Réf. **03039773** 190	System-ID 07 6726 3
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Réf. **10759350** 190	Code 401
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL) pour les USA	Réf. **10759350** 360	Code 401
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Réf. **12149435** 122	Code 300
Precinorm U plus (10 x 3 mL) pour les USA	Réf. **12149435** 160	Code 300
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Réf. **12149443** 122	Code 301
Precipath U plus (10 x 3 mL) pour les USA	Réf. **12149443** 160	Code 301
Precinorm U (20 x 5 mL)	Réf. **10171743** 122	Code 300
Precipath U (20 x 5 mL)	Réf. **10171778** 122	Code 301
Precinorm L (4 x 3 mL)	Réf. **10781827** 122	Code 304
Precipath L (4 x 3 mL)	Réf. **11285874** 122	Code 305
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Réf. **04489357** 190	System-ID 07 6869 3

Français

Informations techniques

Pour les analyseurs **cobas c** 311/501 :
CHO2I : ACN 798, Standardisation DI/SM
CHO2A : ACN 433, Standardisation Abell/Kendall
Pour l'analyseur **cobas c** 502 :
CHO2I : ACN 8798, Standardisation DI/SM
CHO2A : ACN 8433, Standardisation Abell/Kendall

Domaine d'utilisation

Test *in vitro* pour la détermination quantitative du cholestérol dans le sérum et le plasma humains sur les systèmes Roche/Hitachi **cobas c**.

Caractéristiques

Le cholestérol est un stéroïde possédant un groupe hydroxyle secondaire en position C3. Il est synthétisé dans de nombreux tissus, en particulier dans le foie et la paroi intestinale. Environ les trois quarts du cholestérol sont synthétisés dans l'organisme ; un quart est apporté par l'alimentation. Les dosages de cholestérol sont utilisés pour le dépistage d'un risque d'athérosclérose, ainsi que pour le diagnostic et le traitement de maladies avec taux de cholestérol élevé et de troubles du métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

La première méthode de dosage du cholestérol a été décrite par Liebermann en 1885 et, par la suite, par Burchard en 1889. Dans la réaction de Liebermann-Burchard le cholestérol donne en présence d'acide acétique, d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré des dérivés colorés bleu-vert constitués d'hydrocarbures insaturés polymérisés. La méthode d'Abell et Kendall est spécifique du cholestérol, mais techniquement complexe et nécessite l'utilisation de réactifs corrosifs. En 1974, Roeschlau et Allain ont décrit la première méthode entièrement enzymatique de dosage du cholestérol. La méthode décrite ci-dessous repose sur le dosage de la Δ4-cholesténone formée par l'hydrolyse enzymatique des esters du cholestérol par la cholestérol-estérase, suivie de la transformation, en présence de cholestérol-oxydase, du cholestérol en Δ4-cholesténone ; l'eau oxygénée formée au cours de cette dernière réaction est mesurée à l'aide d'une réaction de Trinder. L'optimisation de l'hydrolyse des esters (> 99,5 %) permet une standardisation à l'aide de standards primaires et secondaires et une comparaison directe avec les méthodes de référence du CDC (Center for Disease Control) et du NIST (National Institute of Standards and Technology).[1,2,3,4,5,6,7,8,9] Les valeurs post-prandiales sont légèrement inférieures aux valeurs à jeun.[10,11,12]

La méthode de dosage du cholestérol de Roche répond aux objectifs de performance de 1992 du NIH (National Institute of Health) (précision et erreur systématique inférieures ou égales à 3 %).[12]

Le test est standardisé selon Abell/Kendall et par rapport à la dilution isotopique/spectrométrie de masse. Les déclarations et les performances analytiques indiquées dans la présente notice d'utilisation sont indépendantes de la standardisation.

Principe

Méthode colorimétrique enzymatique
Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure, catalysée par la cholestérol-oxydase, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en Δ4-cholesténone avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec le phénol et l'amino-4 phénazone pour former un dérivé coloré rouge (quinone-imine).

$$\text{Esters du cholestérol} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{cholestérol} + RCOOH$$

$$\text{Cholestérol} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{cholest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{amino-4 phénazone} + \text{phénol} \xrightarrow{POD} \text{colorant quinone-imine} + 4\,H_2O$$

L'intensité du dérivé coloré formé est directement proportionnelle au taux de cholestérol. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon PIPES : 225 mmol/L, pH 6,8 ; Mg^{2+} : 10 mmol/L ; cholate de sodium : 0,6 mmol/L ; amino-4 phénazone : ≥ 0,45 mmol/L ; phénol : ≥ 12,6 mmol/L; monoéther d'alcool gras de polyéthylène-glycol : 3 % ; cholestérol-estérase (de *Pseudomonas*) : ≥ 25 µkat/L (≥ 1,5 U/mL) ; cholestérol-oxydase (d'*E. coli*) : ≥ 7,5 µkat/L (≥ 0,45 U/mL) ; peroxydase (de raifort) : ≥ 12,5 µkat/L (≥ 0,75 U/mL) ; stabilisateurs ; conservateur

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

CHOL2

Conservation entre 2 et 8 °C :	voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack.
Après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur :	4 semaines

Diluent NaCl 9 %

Conservation entre 2 et 8 °C :	voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack.
Après ouverture et réfrigéré sur l'analyseur :	12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum
Plasma : sang total recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA dipotassique
Ne pas utiliser de citrate, d'oxalate ou de fluorure.[13]
Les échantillons prélevés à jeun ou non peuvent être utilisés pour l'analyse.[11]
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas

tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité :[14,15] 7 jours entre 15 et 25 °C
7 jours entre 2 et 8 °C
3 mois entre -15 et -25 °C

Matériel fourni
Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire
Voir section « Références de commande ».
Equipement habituel de laboratoire

Réalisation du test
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

Application pour le sérum et le plasma

cobas c 311 **Définition du test**

Mode de mesure	1 Point		
Temps dosage / points de mesure	10 / 57		
Longueur d'ondes (sec/princ)	700/505 nm		
Sens de la réaction	Croissant		
Unités	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipetage des réactifs		Diluant (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumes échantillon	*Echantillon*	*Dilution échantillon*	
		Echantillon	*Diluant (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Diminué	2 µL	15 µL	135 µL
Augmenté	4 µL	–	–

cobas c 501/502 **Définition du test**

Mode de mesure	1 Point		
Temps dosage / points de mesure	10 / 70		
Longueur d'ondes (sec/princ)	700/505 nm		
Sens de la réaction	Croissant		
Unités	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipetage des réactifs		Diluant (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumes échantillon	*Echantillon*	*Dilution échantillon*	
		Echantillon	*Diluant (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Diminué	2 µL	15 µL	135 µL
Augmenté	4 µL	–	–

Calibration

Calibrateurs	S1 : H_2O S2 : C.f.a.s.
Type calibration	Linéaire
Fréquence des calibrations	Calibration en 2 points - à chaque nouveau lot de réactifs - et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité : la méthode a été standardisée selon Abell/Kendall[12] et par rapport à la dilution isotopique/spectrométrie de masse.[16]

Contrôle de qualité
Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ».
D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.
La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.
Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats
Les systèmes Roche/Hitachi **cobas c** calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteurs de conversion : mmol/L x 38,66 = mg/dL
mmol/L x 0,3866 = g/L
mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Limites d'utilisation - interférences[17]
Critère d'acceptabilité : recouvrement ±10 % de la valeur initiale à une concentration en cholestérol de 5,2 mmol/L (200 mg/dL).

Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 16 pour la bilirubine conjuguée et de 14 pour la bilirubine non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée : 274 µmol/L ou 16 mg/dL et en bilirubine non conjuguée : 239 µmol/L ou 14 mg/dL).

Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 700 (concentration approximative d'hémoglobine : 435 µmol/L ou 700 mg/dL).

Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 2000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.

Médicaments : aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques sur un panel de médicaments fréquemment administrés.[18,19]

Dans de très rares cas, la gammapathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE
Programmation de lavages spéciaux : sur les analyseurs Roche/Hitachi **cobas c**, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. La dernière version de la liste de prévention des contaminations (Carry over evasion list) figure dans les fiches de méthodes NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS ou NaOHD/SMS/SmpCln1 + 2/SCCS. Pour de plus amples instructions, se référer au manuel de l'utilisateur.
Analyseur **cobas c** 502 : toutes les programmations de lavages spéciaux pour la prévention des contaminations se font via **cobas** link. Aucune entrée manuelle n'est nécessaire.
Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

Limites et intervalles
Domaine de mesure
0,1-20,7 mmol/L (3,86-800 mg/dL)

Les échantillons dont les concentrations sont plus élevées sont déterminés via la fonction Réanalyse. Le rapport de dilution des échantillons avec la fonction Réanalyse est 1/10. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 10.

Limites inférieures de mesure
Limite inférieure de détection du test
0,1 mmol/L (3,86 mg/dL)
La limite inférieure de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond à la valeur située 3 écarts-type au-dessus du taux le plus faible de la gamme de standards (standard 1 + 3SD, répétabilité, n = 21).

Valeurs de référence

Interprétation clinique d'après les recommandations de la Société Européenne d'Athérosclérose : [20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Trouble du métabolisme des lipides*
Cholestérol Triglycérides	< 5,2 < 2,3	(< 200) (< 200)	Non
Cholestérol	5,2-7,8	(200-300)	Oui, si le cholestérol est < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Cholestérol Triglycérides	> 7,8 > 2,3	(> 300) (> 200)	Oui

Seuils de risque pour les USA selon les recommandations de l'Adult Treatment Panel du NCEP (National Cholesterol Education Program) :[21]

Taux de cholestérol idéal :	< 5,2 mmol/L	(< 200 mg/dL)
Limite supérieure :	5,2-6,2 mmol/L	(200-240 mg/dL)
Taux élevés :	≥ 6,2 mmol/L	(≥ 240 mg/dL)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne. Répétabilité* (n = 21), précision intermédiaire** (3 aliquotes par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus :

*Répétabilité**	*Moyenne mmol/L (mg/dL)*	*SD mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,29 (88,5)	0,02 (0,8)	1,1
Precipath U	4,74 (183)	0,04 (2)	0,9
Sérum humain 1	2,85 (110)	0,03 (1)	1,1
Sérum humain 2	7,39 (286)	0,05 (2)	0,7

*Précision intermédiaire***	*Moyenne mmol/L (mg/dL)*	*SD mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,31 (89,3)	0,04 (1,6)	1,6
Precipath U	4,85 (188)	0,08 (3)	1,6
Sérum humain 3	1,97 (76,2)	0,03 (1,2)	1,6
Sérum humain 4	7,13 (276)	0,10 (4)	1,4

* Répétabilité = précision intra-série

** Précision intermédiaire = précision totale/précision inter-séries / précision inter-jours

Comparaison de méthodes

Les taux de cholestérol obtenus dans des échantillons de sérum et de plasma humains sur un analyseur Roche/Hitachi **cobas c** 501 (y) ont été comparés avec ceux obtenus avec le même réactif sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x).
n = 266

Passing/Bablok[22]	Régression linéaire
y = 1,002x + 0,045 mmol/L	y = 1,012x - 0,015 mmol/L
τ = 0,953	r = 0,997

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 1,53 et 18,5 mmol/L (59,1 et 715 mg/dL).

Références

1. Greiling H, Gressner AM, éds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3e édition. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET, et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, février 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. Dans: Rifai N, Warnick GR, and Dominiczak MH, éditeurs. Handbook of Lipoprotein Testing. 2e édition. Washington: AACC press; p.176.
14. Tietz NW, éditeur. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Company, 1995:130-131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Janvier 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography - a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145-146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670; mai 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Roche

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

• Estuche adecuado para el analizador **cobas c** respectivo

Información de pedido

Cholesterol Gen.2		
400 tests	Ref. **03039773** 190	ID 07 6726 3
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Ref. **10759350** 190	Código 401
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, para los EE.UU.)	Ref. **10759350** 360	Código 401
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Ref. **12149435** 122	Código 300
Precinorm U plus (10 x 3 mL, para los EE.UU.)	Ref. **12149435** 160	Código 300
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Ref. **12149443** 122	Código 301
Precipath U plus (10 x 3 mL, para los EE.UU.)	Ref. **12149443** 160	Código 301
Precinorm U (20 x 5 mL)	Ref. **10171743** 122	Código 300
Precipath U (20 x 5 mL)	Ref. **10171778** 122	Código 301
Precinorm L (4 x 3 mL)	Ref. **10781827** 122	Código 304
Precipath L (4 x 3 mL)	Ref. **11285874** 122	Código 305
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Ref. **04489357** 190	ID 07 6869 3

sistemas Roche/Hitachi **cobas c**	
cobas c 311	**cobas c** 501/502
•	•

Español

Información del sistema

Analizadores **cobas c** 311/501:
CHO2I: ACN 798: Estandarización DI-EM
CHO2A: ACN 433: Estandarización según Abell/Kendall
Analizador **cobas c** 502:
CHO2I: ACN 8798: Estandarización DI-EM
CHO2A: ACN 8433: Estandarización según Abell/Kendall

Uso previsto

Prueba in vitro para la determinación cuantitativa del colesterol en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**.

Características

El colesterol es un esteroide con un grupo hidroxilo secundario en la posición C_3. Se sintetiza en tejidos de varios tipos, pero especialmente en el hígado y en la pared intestinal. Aprox. tres cuartos del colesterol se forman por síntesis, mientras que el cuarto restante proviene de la alimentación. La determinación del colesterol se emplea para cribar el riesgo aterógeno, así como para diagnosticar y tratar enfermedades con niveles elevados de colesterol o trastornos de los metabolismos lipídico y lipoproteico.

La determinación del colesterol fue descrita por vez primera por Liebermann en 1885 y luego por Burchard en 1889. Según el principio de Liebermann-Burchard, el colesterol forma un compuesto verde azulado a partir de carbohidratos polímeros insaturados en un medio en el que están presentes el ácido acético, el anhídrido acético y el ácido sulfúrico concentrado. En el método de Abell y Kendall, que es más específico pero más complejo desde un punto de vista técnico, se emplean también reactivos cáusticos. En 1974, Roeschlau y Allain describieron el primer método completamente enzimático. Este método se basa en la determinación de la Δ4-colestenona tras el desdoblamiento enzimático del éster de colesterol por la colesterol esterasa, después de la transformación del colesterol por la colesterol oxidasa, así como la medición subsiguiente del peróxido de hidrógeno formado a través de una reacción de Trinder. La optimización del desdoblamiento de los ésteres (> 99,5 %) permite la estandarización por estándares primarios y secundarios y una comparación directa con los métodos de referencia de CDC y NIST.[1,2,3,4,5,6,7,8,9] Las muestras recogidas tras la ingestión de alimentos pueden dar resultados ligeramente inferiores a las obtenidas en ayunas.[10,11,12]

El test de colesterol de Roche cumple con los objetivos sentados en 1992 por los Institutos Nacionales de la Salud de los EE.UU. (NIH) que corresponden a valores iguales o inferiores al 3 % tanto para la precisión como para la desviación.[12]

El presente test ha sido estandarizado frente a Abell/Kendall así como por dilución isotópica/espectrometría de masa. Los datos del desempeño del test aquí presentados no dependen de la estandarización.

Principio de test

Método enzimático colorimétrico.

Los ésteres de colesterol se desdoblan por la acción de la colesterol esterasa a colesterol libre y ácidos grasos. La colesterol oxidasa cataliza entonces la oxidación de colesterol a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado produce la unión oxidativa del fenol y la 4-aminofenazona para formar un colorante rojo de quinona-imina.

$$\text{ésteres de colesterol} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{colesterol} + RCOOH$$

$$\text{colesterol} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{colest-4-en-3-ona} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{fenol} \xrightarrow{POD} \text{colorante de quinona-imina} + 4\ H_2O$$

La intensidad cromática del colorante formado es directamente proporcional a la concentración de colesterol. Se determina midiendo el aumento de la absorbancia.

Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón PIPES: 225 mmol/L, pH 6,8; Mg^{2+}: 10 mmol/L; colato sódico: 0,6 mmol/L; 4-aminofenazona: ≥ 0,45 mmol/L; fenol: ≥ 12,6 mmol/L; éter poliglicólico de alcohol graso: 3 %; colesterol esterasa (Pseudomonas spec.): ≥ 25 µkat/L (≥ 1,5 U/mL); colesterol oxidasa (E. coli): ≥ 7,5 µkat/L (≥ 0,45 U/mL); peroxidasa (rábano picante): ≥ 12,5 µkat/L (≥ 0,75 U/mL); estabilizadores; conservante

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico in vitro.
Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.
Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.
Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

El contenido está listo para el uso.

Conservación y estabilidad

CHOL2

Sin abrir, a 2-8 °C:	ver la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c** pack.
En uso y refrigerado en el analizador:	4 semanas

Diluyente NaCl al 9 %

Sin abrir, a 2-8 °C:	ver la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c** pack.
En uso y refrigerado en el analizador:	12 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.
Sólo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.
Suero.
Plasma tratado con heparina de litio y EDTA bipotásico.
No emplear plasma con citrato, oxalato o fluoruro.[13]
Se puede emplear muestras recogidas en ayunas o después de comer.[11]
Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel

momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Estabilidad:[14,15]	7 días a 15-25 °C
	7 días a 2-8 °C
	3 meses a (-15)-(-25) °C

Material suministrado
Consultar los reactivos en la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo".

Material requerido (no suministrado)
Consultar la sección "Información de pedido".
Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test
Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo.
Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero y plasma

Definición del test en el analizador cobas c 311

Tipo de medición	1 Punto		
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 57		
Longitud de onda (sub/princ)	700/505 nm		
Dirección de reacción	Incremento		
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipeteo de reactivo		Diluyente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volúmenes de muestra	*Muestra*	*Dilución de muestra*	
		Muestra	*Diluyente (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Disminuido	2 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	4 µL	–	–

Definición del test en los analizadores cobas c 501/502

Tipo de medición	1 Punto		
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 70		
Longitud de onda (sub/princ)	700/505 nm		
Dirección de reacción	Incremento		
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipeteo de reactivo		Diluyente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volúmenes de muestra	*Muestra*	*Dilución de muestra*	
		Muestra	*Diluyente (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Disminuido	2 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	4 µL	–	–

Calibración

Calibradores	S1: H_2O
	S2: C.f.a.s.
Modo de calibración	Lineal
Frecuencia de calibraciones	calibración a 2 puntos
	- tras cambiar de lote de reactivos
	- y según lo requiera el control de calidad

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado por el método de Abell/Kendall[12] así como por dilución isotópica/espectrometría de masa.[16]

Control de calidad
Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Información de pedido".
Asimismo puede emplearse otro material de control apropiado.
Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requerimientos de cada laboratorio en particular. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de que los valores se sitúen fuera de los límites.
Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo
Los analizadores Roche/Hitachi **cobas c** calculan automáticamente la concentración de analito de cada muestra.

Factores de conversión:	mmol/L x 38,66 = mg/dL
	mmol/L x 0,3866 = g/L
	mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Limitaciones – Interferencias[17]
Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor incial con una concentración de colesterol de 5,2 mmol/L (200 mg/dL).

Ictericia: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 16 para la bilirrubina conjugada y de 14 para la bilirrubina sin conjugar, lo cual equivale a una concentración aproximada de bilirrubina conjugada de 274 µmol/L ó 16 mg/dL y a una concentración aproximada de bilirrubina sin conjugar de 239 µmol/L ó 14 mg/dL.

Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 700 (concentración de hemoglobina: aprox. 435 µmol/L ó 700 mg/dL).

Lipemia (Intralipid): Sin interferencia significativa hasta un índice L de 2.000. No existe una concordancia satisfactoria entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.[18,19]

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA
Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan de forma combinada en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**. La versión más actual de la lista de contaminaciones por arrastre se encuentra en la metódica NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS o la metódica NaOHD/SMS/SmpCln1 + 2/SCCS. Para mayor información consulte el manual del operador.
Analizador **cobas c** 502: Todos los pasos de lavado necesarios para evitar la contaminación por arrastre están disponibles a través del enlace **cobas** de modo que no se requiere la entrada manual de los datos.
En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial destinado a evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos
Intervalo de medición
0,1-20,7 mmol/L (3,86-800 mg/dL)

Determinar las muestras con concentraciones superiores a través de la función de repetición del ciclo. La dilución de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:10. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 10.

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

0,1 mmol/L (3,86 mg/dL)

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, repetibilidad, n = 21).

Valores teóricos

Interpretación clínica según las recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis:[20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Trastorno del metabolismo de lípidos*
Colesterol	< 5,2	(< 200)	No
Triglicéridos	< 2,3	(< 200)	
Colesterol	5,2-7,8	(200-300)	Sí, si el colesterol-HDL < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Colesterol	> 7,8	(> 300)	Sí
Triglicéridos	> 2,3	(> 200)	

Valores límites de riesgo para la población adulta de los EE.UU. recomendados por el panel de expertos del Programa Nacional de Educación de colesterol de los EE.UU.[21]

Nivel ideal de colesterol	< 5,2 mmol/L	(< 200 mg/dL)
Colesterol elevado límite	5,2-6,2 mmol/L	(200-240 mg/dL)
Colesterol alto	≥ 6,2 mmol/L	(≥ 240 mg/dL)

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad* (n = 21), precisión intermedia** (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

*Repetibilidad**	*VM mmol/L (mg/dL)*	*DE mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,29 (88,5)	0,02 (0,8)	1,1
Precipath U	4,74 (183)	0,04 (2)	0,9
Suero humano 1	2,85 (110)	0,03 (1)	1,1
Suero humano 2	7,39 (286)	0,05 (2)	0,7

*Precisión intermedia***	*VM mmol/L (mg/dL)*	*DE mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,31 (89,3)	0,04 (1,6)	1,6
Precipath U	4,85 (188)	0,08 (3)	1,6
Suero humano 3	1,97 (76,2)	0,03 (1,2)	1,6
Suero humano 4	7,13 (276)	0,10 (4)	1,4

* repetibilidad = precisión intraserie

** precisión intermedia = precisión total / precisión interserie / precisión día a día

Comparación de métodos

Se han comparado los valores de colesterol en muestras de suero y plasma humanos obtenidos en un analizador Roche/Hitachi **cobas c** 501 (y) con los obtenidos con el mismo reactivo en un analizador Roche/Hitachi 917 (x).
Cant. de muestras (n) = 266

Passing/Bablok[22]	Regresión lineal
y = 1,002x + 0,045 mmol/L	y = 1,012x - 0,015 mmol/L
τ = 0,953	r = 0,997

La concentración de las muestras se situó entre 1,53 y 18,5 mmol/L (59,1-715 mg/dL).

Referencias bibliográficas

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. En: Rifai N, Warnick GR, and Dominiczak MH, editors. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed. Washington: AACC press; p.176.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:130-131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography - a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145-146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No 01-3670; May 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Roche

03039773190V7

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

• Indica i sistemi **cobas c** su cui i reattivi possono essere usati

Informazioni per ordini

			Sistemi Roche/Hitachi **cobas c**	
Cholesterol Gen.2			**cobas c** 311	**cobas c** 501/502
400 test	Art. n. **03039773** 190	N. d'ident. 07 6726 3	•	•
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Art. n. **10759350** 190	Codice 401		
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, per gli USA)	Art. n. **10759350** 360	Codice 401		
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Art. n. **12149435** 122	Codice 300		
Precinorm U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Art. n. **12149435** 160	Codice 300		
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Art. n. **12149443** 122	Codice 301		
Precipath U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Art. n. **12149443** 160	Codice 301		
Precinorm U (20 x 5 mL)	Art. n. **10171743** 122	Codice 300		
Precipath U (20 x 5 mL)	Art. n. **10171778** 122	Codice 301		
Precinorm L (4 x 3 mL)	Art. n. **10781827** 122	Codice 304		
Precipath L (4 x 3 mL)	Art. n. **11285874** 122	Codice 305		
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Art. n. **04489357** 190	N. d'ident. 07 6869 3		

Italiano

Informazioni relative al sistema

Per gli analizzatori **cobas c** 311/501:
CHO2I: ACN 798: standardizzazione contro l'ID/MS
CHO2A: ACN 433: standardizzazione contro Abell-Kendall

Per l'analizzatore **cobas c** 502:
CHO2I: ACN 8798: standardizzazione contro l'ID/MS
CHO2A: ACN 8433: standardizzazione contro Abell-Kendall

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa del colesterolo nel siero e nel plasma umani, impiegando sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario

Il colesterolo è uno steroide con un gruppo idrossilico secondario nella posizione C3. Sintetizzato in molti tipi di tessuto, ma principalmente nel fegato e nella parete intestinale, esso origina ca. per tre quarti per sintesi endogena e per un quarto dall'assunzione alimentare. Le determinazioni del colesterolo vengono impiegate nello screening del rischio aterosclerotico e nella diagnosi e nel trattamento di malattie con valori di colesterolo elevati nonché di disturbi a carico del metabolismo lipidico e lipoproteico.

Il primo metodo per la determinazione del colesterolo fu descritto da Liebermann nel 1885 ed in seguito da Burchard nel 1889. Nella reazione di Liebermann-Burchard, il colesterolo, in presenza di acido acetico, di anidride acetica e di acido solforico concentrato, forma un colorante verde-blu a base dei carboidrati insaturati polimerici. Il metodo Abell-Kendall, benché specifico per il colesterolo, utilizza reattivi corrosivi e risulta tuttora tecnicamente complesso. Nel 1974, Roeschlau ed Allain descrissero il primo metodo completamente enzimatico. Questo metodo è basato sulla determinazione del Δ4-colestenone in seguito alla scissione enzimatica del colesterolo estere da parte della colesterolo esterasi, alla trasformazione del colesterolo mediante la colesterolo ossidasi e alla conseguente misurazione, mediante la reazione di Trinder, del perossido di idrogeno formatosi. L'ottimizzazione della scissione dell'estere (>99,5 %) permette la standardizzazione utilizzando standard primari e secondari e un confronto diretto con i metodi di riferimento dei CDC e del NIST.[1,2,3,4,5,6,7,8,9] I risultati dei campioni postprandiali possono essere leggermente inferiori a quelli ottenuti con campioni prelevati a digiuno.[10,11,12]

La determinazione del colesterolo di Roche è conforme agli obiettivi fissati dai National Institutes of Health (NIH) nel 1992, riguardo ad una performance inferiore o uguale al 3 % sia per la precisione che per la deviazione.[12]

Il test è stato standardizzato opzionalmente contro Abell-Kendall e contro la spettrometria di massa con diluizione isotopica. Le indicazioni ed i dati relativi alla performance riportati nella presente metodica sono indipendenti dalla standardizzazione.

Principio del test

Metodo enzimatico colorimetrico.

Gli esteri del colesterolo vengono dissociati per azione della colesterolo esterasi, formando colesterolo libero e acidi grassi. Poi la colesterolo ossidasi catalizza l'ossidazione del colesterolo, formando colest-4-en-3-one e perossido d'idrogeno. In presenza di perossidasi, il perossido d'idrogeno formatosi influenza sull'accoppiamento ossidativo del fenolo e del 4-aminofenazone, producendo un colorante chinoneiminico rosso.

$$\text{Esteri del colesterolo} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{colesterolo} + \text{RCOOH}$$

$$\text{Colesterolo} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{colest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{fenolo} \xrightarrow{POD} \text{colorante chinoneiminico} + 4\,H_2O$$

L'intensità di colore del colorante formatosi è direttamente proporzionale alla concentrazione di colesterolo. Viene determinata misurando l'aumento dell'assorbanza.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 Tampone PIPES: 225 mmol/L, pH 6,8; Mg^{2+}: 10 mmol/L; sodio colato: 0,6 mmol/L; 4-aminofenazone: ≥0,45 mmol/L; fenolo: ≥12,6 mmol/L; poliglicoletere di alcol grasso: 3 %; colesterolo esterasi (*Pseudomonas spec.*): ≥25 µkat/L (≥1,5 U/mL); colesterolo ossidasi (*E. coli*): ≥7,5 µkat/L (≥0,45 U/mL); perossidasi (rafano): ≥12,5 µkat/L (≥0,75 U/mL); stabilizzatori; conservante

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.
Osservare le precauzioni normalmente adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio.
Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Utilizzo dei reattivi

Pronti all'uso.

Conservazione e stabilità

CHOL2

Stabilità a 2–8 °C:	Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.
In uso e refrigerato a bordo dello strumento:	4 settimane

Diluent NaCl 9 %

Stabilità a 2–8 °C:	Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.
In uso e refrigerato a bordo dello strumento:	12 settimane

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

Prelievo e preparazione dei campioni
Per il prelievo e la preparazione dei campioni impiegare solo provette o contenitori di raccolta adatti.
Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero.
Plasma: plasma con litio eparina e K_2-EDTA.
Non impiegare citrato, ossalato o fluoruro.[13]
Si possono utilizzare campioni prelevati da soggetti a digiuno e non a digiuno.[11]

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Stabilità:[14,15]	7 giorni a 15–25 °C
	7 giorni a 2–8 °C
	3 mesi a (-15)–(-25) °C

Materiali a disposizione
Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)
Vedere la sezione "Informazioni per ordini".
Normale attrezzatura da laboratorio

Esecuzione
Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.
Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Applicazione per il siero ed il plasma

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 311

Tipo di misura	1 Punto finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 57		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/505 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Volumi dei reagenti		Diluente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumi dei campioni	*Campione*	*Diluizione del campione*	
		Campione	*Diluente (NaCl)*
Normale	2 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2 µL	15 µL	135 µL
Concentrato	4 µL	–	–

Definizione del test per gli analizzatori cobas c 501/502

Tipo di misura	1 Punto finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 70		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/505 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Volumi dei reagenti		Diluente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumi dei campioni	*Campione*	*Diluizione del campione*	
		Campione	*Diluente (NaCl)*
Normale	2 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2 µL	15 µL	135 µL
Concentrato	4 µL	–	–

Calibrazione

Calibratori	S1: H_2O S2: C.f.a.s.
Tipo di calibrazione	Lineare
Frequenza di calibrazione	Calibrazione a 2 punti - a cambio di lotto del reattivo - e se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato secondo Abell-Kendall[12] nonché contro la spettrometria di massa con diluizione isotopica.[16]

Controllo di qualità
Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati nella sezione "Informazioni per ordini".
In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.
Gli intervalli e limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti.
Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo
I sistemi Roche/Hitachi **cobas c** effettuano il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ciascun campione.

Fattori di conversione:	mmol/L x 38,66 = mg/dL
	mmol/L x 0,3866 = g/L
	mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Limiti del metodo – interferenze[17]
Valutazione: recupero entro ±10 % dei valori iniziali ad una concentrazione di colesterolo di 5,2 mmol/L (200 mg/dL).

Ittero: nessuna interferenza significativa fino ad un indice I di 16 per bilirubina coniugata e di 14 per bilirubina non coniugata (concentrazione di bilirubina coniugata: ca. 274 µmol/L (16 mg/dL), e concentrazione di bilirubina non coniugata: ca. 239 µmol/L (14 mg/dL)).

Emolisi: nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 700 (concentrazione di emoglobina: ca. 435 µmol/L (700 mg/dL)).

Lipemia (Intralipid): nessuna interferenza significativa fino ad un indice L di 2000. Non esiste una buona correlazione tra l'indice L (corrisponde alla torbidità) e la concentrazione di trigliceridi.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.[18,19]

In casi molto rari, la gammapatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

AZIONI RICHIESTE
Programmazione extra lavaggi: è assolutamente necessario effettuare specifiche fasi di lavaggio se certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alla metodica NaOHD / SMS / Multiclean / SCCS o alla metodica NaOHD / SMS / SmpCln1 + 2 / SCCS. Per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso.
Analizzatore **cobas c** 502: tutte le programmazioni di extra lavaggi richieste per evitare possibili carry-over sono disponibili tramite **cobas** link senza che sia necessario effettuare inserimenti manuali.
È necessario implementare la procedura di extralavaggio (qualora richiesta) prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura
0,1–20,7 mmol/L (3,86–800 mg/dL)

Determinare i campioni con concentrazioni più alte mediante la funzione rerun. La diluizione dei campioni mediante la funzione rerun avviene nel rapporto 1:10. I risultati ottenuti con i campioni diluiti mediante la funzione rerun vengono automaticamente moltiplicati per il fattore 10.

Limiti inferiori di misura

Limite di sensibilità inferiore del test

0,1 mmol/L (3,86 mg/dL)

Il limite di sensibilità inferiore rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo zero. Viene calcolato come il valore che si trova 3 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (standard 1 + 3 DS, ripetibilità, n = 21).

Valori di riferimento

Interpretazione clinica secondo le raccomandazioni della European Atherosclerosis Society:[20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Disturbi nel metabolismo lipidico*
Colesterolo Trigliceridi	<5,2 <2,3	(<200) (<200)	No
Colesterolo	5,2–7,8	(200–300)	Sì, se il colesterolo HDL è < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Colesterolo Trigliceridi	>7,8 >2,3	(>300) (>200)	Sì

Raccomandazioni dell'Adult Treatment Panel (Panel trattamento adulti) dell'NCEP per le seguenti soglie del cutoff di rischio, relative alla popolazione degli Stati Uniti:[21]

Livello di colesterolo desiderabile	<5,2 mmol/L	(<200 mg/dL)
Colesterolo alto al limite	5,2–6,2 mmol/L	(200–240 mg/dL)
Colesterolo alto	≥6,2 mmol/L	(≥240 mg/dL)

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata usando campioni umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo interno. Ripetibilità* (n = 21), precisione intermedia** (3 aliquote per serie, 1 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

*Ripetibilità**	*Media mmol/L (mg/dL)*	*DS mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,29 (88,5)	0,02 (0,8)	1,1
Precipath U	4,74 (183)	0,04 (2)	0,9
Siero umano 1	2,85 (110)	0,03 (1)	1,1
Siero umano 2	7,39 (286)	0,05 (2)	0,7

*Precisione intermedia***	*Media mmol/L (mg/dL)*	*DS mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,31 (89,3)	0,04 (1,6)	1,6
Precipath U	4,85 (188)	0,08 (3)	1,6
Siero umano 3	1,97 (76,2)	0,03 (1,2)	1,6
Siero umano 4	7,13 (276)	0,10 (4)	1,4

* Ripetibilità = precisione nella serie

** Precisione intermedia = precisione totale / precisione fra le serie / precisione intergiornaliera

Confronto tra metodi

I valori di colesterolo ottenuti per campioni di siero e di plasma umani su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c** 501 (y) sono stati confrontati con quelli determinati con lo stesso reagente su un analizzatore Roche/Hitachi 917 (x).

Dimensione (n) del campione = 266

Passing/Bablok[22]	Regressione lineare
y = 1,002x + 0,045 mmol/L	y = 1,012x – 0,015 mmol/L
τ = 0,953	r = 0,997

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra 1,53 e 18,5 mmol/L (fra 59,1 e 715 mg/dL).

Letteratura

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3ª ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456–2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, febbraio 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. In: Rifai N, Warnick GR e Dominiczak MH, editori. Handbook of Lipoprotein Testing. 2ª ed. Washington: AACC press; p. 176.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3ª ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:130–131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Gen. 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography – a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145–146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385–386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376–385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670; maggio 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

Le aggiunte o modifiche significative sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Roche

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

• Indica em que sistemas **cobas c** podem ser utilizados os reagentes

Informações para encomenda

Cholesterol Gen.2			Sistemas Roche/Hitachi **cobas c**	
			cobas c 311	**cobas c** 501/502
400 testes	Ref. **03039773** 190	System-ID 07 6726 3	•	•
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Ref. **10759350** 190	Código 401		
Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, para os EUA)	Ref. **10759350** 360	Código 401		
Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Ref. **12149435** 122	Código 300		
Precinorm U plus (10 x 3 mL, para os EUA)	Ref. **12149435** 160	Código 300		
Precipath U plus (10 x 3 mL)	Ref. **12149443** 122	Código 301		
Precipath U plus (10 x 3 mL, para os EUA)	Ref. **12149443** 160	Código 301		
Precinorm U (20 x 5 mL)	Ref. **10171743** 122	Código 300		
Precipath U (20 x 5 mL)	Ref. **10171778** 122	Código 301		
Precinorm L (4 x 3 mL)	Ref. **10781827** 122	Código 304		
Precipath L (4 x 3 mL)	Ref. **11285874** 122	Código 305		
Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Ref. **04489357** 190	System-ID 07 6869 3		

Português

Informações do sistema
Analisadores **cobas c** 311/501:
CHO2I: ACN 798: Padronização ID/MS
CHO2A: ACN 433: Padronização Abell/Kendall
Analisador **cobas c** 502:
CHO2I: ACN 8798: Padronização ID/MS
CHO2A: ACN 8433: Padronização Abell/Kendall

Utilização prevista
Teste in vitro para determinação quantitativa de colesterol em soro e plasma humanos, utilizando os sistemas Roche/Hitachi **cobas c**.

Resumo
O colesterol é um esteróide com um grupo hidroxílico secundário na posição C3. É sintetizado em muitos tipos de tecido, mas sobretudo no fígado e na parede intestinal. Cerca de três quatros do colesterol é formado por síntese e um quarto tem origem na dieta alimentar. As determinações do colesterol são utilizadas para a despistagem do risco aterogénico e no diagnóstico e tratamento de doenças que envolvem níveis elevados de colesterol, bem como de perturbações do metabolismo lipídico e lipoproteico.

A análise do colesterol foi descrita pela 1ª vez por Liebermann em 1885, e mais tarde por Burchard, em 1889. Na reacção Liebermann-Burchard, o colesterol forma um corante azul-esverdeado a partir de hidratos de carbono poliméricos não-saturados num meio de ácido acético/anidrido acético/ácido sulfúrico concentrado. O método de Abell e Kendall é específico do colesterol, mas é tecnicamente complexo e exige o uso de reagentes corrosivos. Em 1974, Roeschlau e Allain descreveram o primeiro método totalmente enzimático. Este método baseia-se na determinação da Δ4-colestenona após clivagem enzimática do éster de colesterol pela colesterol esterase, a conversão do colesterol pela colesterol oxidase, e a subsequente determinação do peróxido de hidrogénio formado, utilizando a reacção de Trinder. A optimização da clivagem do éster (> 99,5 %) permite a padronização, utilizando padrões primários e secundários e uma comparação directa com os métodos de referência do CDC e do NIST.[1,2,3,4,5,6,7,8,9] Os resultados obtidos com amostras que não foram colhidas em jejum podem ser ligeiramente mais baixos do que os resultados obtidos em amostras que foram colhidas em jejum.[10,11,12]

O doseamento do colesterol da Roche cumpre o requisito de 1992 do National Institutes of Health (NIH), com precisão e desvio inferior ou igual a 3 %.[12]

O ensaio também pode ser padronizado contra Abell/Kendall e diluição de isótopos/espectrometria de massas. As afirmações e os dados relativos ao desempenho aqui apresentados são independentes da padronização.

Princípio do teste
Método colorimétrico enzimático.
Os ésteres de colesterol são clivados através da acção da colesterol esterase e produzem colesterol livre e ácidos gordos. A colesterol oxidase catalisa a oxidação do colesterol para colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogénio. Em presença da peroxidase, o peróxido de hidrogénio formado afecta o acoplamento oxidativo do fenol e da 4-aminoantipirina, formando um corante vermelho de quinona-imina.

$$\text{Ésteres de colesterol} + H_2O \xrightarrow{CE} \text{colesterol} + RCOOH$$

$$\text{Colesterol} + O_2 \xrightarrow{CHOD} \text{colest-4-en-3-ona} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-AAP} + \text{fenol} \xrightarrow{POD} \text{corante quinona-imina} + 4\,H_2O$$

A intensidade da cor do corante formado é directamente proporcional à concentração de colesterol. É determinada medindo o aumento da absorvância.

Reagentes – soluções de trabalho

R1 Tampão PIPES: 225 mmol/L, pH 6,8; Mg^{2+}: 10 mmol/L; colato de sódio: 0,6 mmol/L; 4-aminofenazona: ≥ 0,45 mmol/L; fenol: ≥ 12,6 mmol/L; álcool gordo de poliglicoléter: 3 %; colesterol esterase (Pseudomonas spec.): ≥ 25 µkat/L (≥ 1,5 U/mL); colesterol oxidase (E. coli): ≥ 7,5 µkat/L (≥ 0,45 U/mL); peroxidase (rábano): ≥ 12,5 µkat/L (≥ 0,75 U/mL); estabilizantes; conservante

Avisos e precauções
Para utilização em diagnóstico in vitro.
Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.
Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.
Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Preparação dos reagentes
Pronto a ser utilizado.

Armazenamento e estabilidade

CHOL2

Validade a 2-8 °C:	Consulte o prazo de validade da embalagem que contém os reagentes **cobas c** pack.
Refrigerado no analisador:	4 semanas

Diluent NaCl 9 %

Validade a 2-8 °C:	Consulte o prazo de validade da embalagem que contém os reagentes **cobas c** pack.
Refrigerado no analisador:	12 semanas

Colheita e preparação das amostras
Para colheita e preparação das amostras, utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.
Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro.
Plasma: Tratado com heparina-Li e EDTA-K_2.
Não utilizar citrato, oxalato ou fluoreto.[13]
Podem ser utilizadas amostras colhidas com e sem jejum.[11]

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se

processar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras) consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Estabilidade:[14,15] 7 dias a 15-25 °C
7 dias a 2-8 °C
3 meses a (-15)-(-25) °C

Materiais fornecidos
Consulte a secção “Reagentes - soluções de trabalho”.

Materiais necessários (mas não fornecidos)
Consulte a secção “Informações para encomenda”.
Equipamento normal de laboratório

Ensaio
Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.
A realização de aplicações não validadas pela Roche não é garantida e deve ser definida pelo utilizador.

Aplicação para soro e plasma

Analisador **cobas c** 311 - **Definição do teste**

Tipo de teste	1 Point		
Tempo da reacção/ Pontos de ensaio	10 / 57		
Comprimento de onda (sub/principal)	700/505 nm		
Sentido da reacção	Aumento		
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipetagem de reagente		Diluente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumes das amostras	*Amostra*	*Diluição da amostra*	
		Amostra	*Diluente (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Diminuição	2 µL	15 µL	135 µL
Aumento	4 µL	–	–

Analisadores **cobas c** 501/502 - **Definição do teste**

Tipo de teste	1 Point		
Tempo da reacção/ Pontos de ensaio	10 / 70		
Comprimento de onda (sub/principal)	700/505 nm		
Sentido da reacção	Aumento		
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipetagem de reagente		Diluente (H_2O)	
R1	47 µL	93 µL	
Volumes das amostras	*Amostra*	*Diluição da amostra*	
		Amostra	*Diluente (NaCl)*
Normal	2 µL	–	–
Diminuição	2 µL	15 µL	135 µL
Aumento	4 µL	–	–

Calibração

Calibradores	S1: H_2O S2: C.f.a.s.
Modo de calibração	Linear
Frequência da calibração	Calibração de 2 pontos - após a mudança de lote de reagente - e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo da qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado de acordo com Abell/Kendall[12] e também por diluição do isótopo/espectrometria de massa[16].

Controlo da Qualidade
Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda".
Adicionalmente, pode ser utilizado outro material de controlo adequado.
Os intervalos e limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.
Cumpra os regulamentos governamentais aplicáveis e as directrizes locais de controlo da qualidade.

Cálculo dos resultados
Os sistemas Roche/Hitachi **cobas c** calculam automaticamente a concentração de analito de cada amostra.

Factores de conversão:	mmol/L x 38,66 = mg/dL
	mmol/L x 0,3866 = g/L
	mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Limitações – interferências[17]
Critério: Recuperação dentro de ± 10 % dos valores iniciais com uma concentração de colesterol de 5,2 mmol/L (200 mg/dL).

Icterícia: Nenhuma interferência significativa até a um índice I de 16 para bilirrubina conjugada e de 14 para bilirrubina não-conjugada (concentração aproximada de bilirrubina conjugada: 274 µmol/L ou 16 mg/dL, concentração aproximada de bilirrubina não-conjugada: 239 µmol/L ou 14 mg/dL).

Hemólise: Nenhuma interferência significativa até um índice H de 700 (concentração aproximada de hemoglobina: 435 µmol/L (700 mg/dL)).

Lipemia (Intralipid): Nenhuma interferência significativa até um índice L de 2000. Existe uma correlação fraca entre o índice L (corresponde à turbidez) e a concentração de triglicéridos.

Fármacos: Não se encontrou qualquer interferência com concentrações terapêuticas utilizando painéis de fármacos comuns.[18,19]

Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame clínico e outros resultados.

ACÇÃO NECESSÁRIA
Programação de lavagem especial: É obrigatória a utilização de ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam executadas em conjunto nos sistemas Roche/Hitachi **cobas c**. Consulte a versão mais recente da lista de carry-over (arrastamento) que se encontra na Folha de Métodos NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS ou NaOHD/SMS/SmpCln1 + 2/SCCS.
Para mais informações, consulte o manual do operador.
Analisador **cobas c** 502: As instruções especiais de lavagem necessárias para evitar a carry-over (contaminação) estão disponíveis via **cobas** link. Não é necessário introduzir dados manualmente
Onde requerido, a programação de lavagem especial/carry-over (arrastamento) deve ser implementada antes de reportar os resultados deste teste.

Limites e intervalos
Intervalo de medição
0,1-20,7 mmol/L (3,86-800 mg/dL)

Determine as amostras com concentrações superiores através da função de reanálise. A amostras são diluidas de 1:10 através da função de reanálise. Os resultados obtidos em amostras diluídas através da função de reanálise são multiplicados automaticamente pelo factor 10.

Limites inferiores de medição
Limite inferior de detecção do teste
0,1 mmol/L (3,86 mg/dL)
O limite de detecção inferior representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado três desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (padrão 1 + 3 DP; reprodutibilidade n = 21).

CHOL2

Cholesterol Gen.2

cobas®

Valores de referência

Interpretação clínica feita de acordo com as recomendações da Sociedade Europeia de Aterosclerose:[20]

	mmol/L	*mg/dL*	*Alterações do metabolismo dos lípidos*
Colesterol	< 5,2	(< 200)	Não
Triglicéridos	< 2,3	(< 200)	
Colesterol	5,2-7,8	(200-300)	Sim, se o colesterol HDL for < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Colesterol	> 7,8	(> 300)	Sim
Triglicéridos	> 2,3	(> 200)	

Recomendações do Painel de Tratamento de Adultos do NCEP para os seguintes limiares de cutoff de risco para a população norte-americana:[21]

Nível de colesterol desejável	< 5,2 mmol/L	(< 200 mg/dL)
Colesterol elevado limítrofe (borderline)	5,2-6,2 mmol/L	(200-240 mg/dL)
Colesterol elevado	≥ 6,2 mmol/L	(≥ 240 mg/dL)

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A precisão foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno. Repetibilidade* (n = 21), precisão intermédia** (3 alíquotas por série, 1 série por dia, 21 dias). Obtiveram-se os seguintes resultados:

*Reprodutibilidade**	*Média mmol/L (mg/dL)*	*DP mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,29 (88,5)	0,02 (0,8)	1,1
Precipath U	4,74 (183)	0,04 (2)	0,9
Soro humano 1	2,85 (110)	0,03 (1)	1,1
Soro humano 2	7,39 (286)	0,05 (2)	0,7

*Precisão intermédia***	*Média mmol/L (mg/dL)*	*DP mmol/L (mg/dL)*	*CV %*
Precinorm U	2,31 (89,3)	0,04 (1,6)	1,6
Precipath U	4,85 (188)	0,08 (3)	1,6
Soro humano 3	1,97 (76,2)	0,03 (1,2)	1,6
Soro humano 4	7,13 (276)	0,10 (4)	1,4

* Repetibilidade = precisão intra-ensaio

** Precisão intermédia = precisão total/precisão inter-ensaio/precisão entre dias

Comparação dos métodos

Os valores de colesterol das amostras de soro e plasma humanos obtidos num analisador Roche/Hitachi **cobas c** 501 (y) foram comparados com os obtidos com o mesmo reagente num analisador Roche/Hitachi 917 (x).
Tamanho da amostra (n) = 266

Passing/Bablok[22]	Regressão linear
y = 1,002x + 0,045 mmol/L	y = 1,012x - 0,015 mmol/L
τ = 0,953	r = 0,997

As concentrações das amostras variaram entre 1,53-18,5 mmol/L (59,1-715 mg/dL).

Bibliografia

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:
2. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4. Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5. Allain CC et al. Clin Chem 1974; 20:470.
6. Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8. Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983; 29:1075.
9. Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984; 30:352.
10. Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
11. Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
13. Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. In: Rifai N, Warnick GR, and Dominiczak MH, editors. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed. Washington: AACC press; p.176.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:130-131.
15. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
16. Siekmann L, Hüskes KP, Breuer H. 1976: Determination of cholesterol in serum using mass fragmentography - a reference method in clinical chemistry. Z Anal Chem 279, 145-146.
17. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
18. Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
19. Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
20. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
21. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No 01-3670; May 2001.
22. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.

CE

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Roche